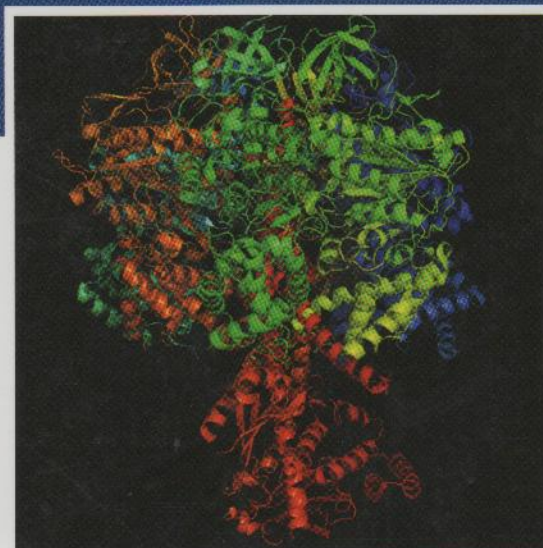


# BIOSCIENCES ET TECHNIQUES

Collection dirigée par A. Calas et F. Guillet

4<sup>e</sup> édition

G. Coutouly, E. Klein, E. Barbieri,  
M. Kriat



## Travaux dirigés de biochimie, biologie moléculaire et bioinformatique

# Travaux dirigés de biochimie, biologie moléculaire et bioinformatique

Les études des sciences de la vie, c'est-à-dire de biologie, ne sauraient actuellement se concevoir sans celle des biomolécules. Étudier des biomolécules ne peut plus se limiter à exposer divers résultats concernant leurs structures et leurs propriétés. Il importe également de connaître la manière dont ces résultats peuvent être obtenus d'où l'importance de la connaissance et la maîtrise des techniques d'analyse et de dosage de ces biomolécules.

Cette quatrième édition des *Travaux dirigés de biochimie, biologie moléculaire et bioinformatique* offre aux élèves et aux étudiants, en plus d'un résumé de cours que chaque professeur aura à cœur d'adapter à ses objectifs pédagogiques et au niveau de ses élèves, des exercices variés permettant l'acquisition d'une certaine maîtrise de la manière dont les résultats expérimentaux sont obtenus. Elle prend en compte la notation des grandeurs et des constantes qui doit être désormais utilisée.

L'ouvrage comprend cinq parties :

- les notions préliminaires (rappel des notions de mathématiques, de chimie et de physicochimie utilisées dans l'ouvrage) ;
- les biomolécules et leurs transformations (glucides, lipides, protides, enzymes, bioénergétique) ;
- la biologie moléculaire et la bioinformatique (y compris les techniques de génie génétique) ;
- les principales méthodes analytiques utilisées au laboratoire de biochimie (méthodes chromatographiques, électrophorétiques et optiques) ;
- la qualité au laboratoire de biochimie.

Les chapitres « Enzymes » et « Qualité au laboratoire de biochimie » ont été réécrits. Le chapitre « Méthodes optiques » a été complété.

Cet ouvrage s'adresse :

- aux élèves et professeurs des classes de première et de terminale des classes préparatoires au baccalauréat « Science et Technique de Laboratoire » (STL) option « Biotechnologies » ;
- aux étudiants et professeurs des classes préparatoires aux Brevets de Techniciens Supérieurs (BTS) « Analyses Biologiques Médicales » (ABM), « Bioanalyses et Contrôles » (BIAC), « Biotechnologies », « Qualité dans les Industries Alimentaires et Bio-industries » (QIAB), « Métiers de l'Eau » ;
- aux étudiants et professeurs des classes préparatoires aux grandes écoles « Technologie et Biologie » (CPGE TB) ;
- aux étudiants et professeurs des sections préparatoires au Diplôme Universitaire de Technologie (DUT) « Génie Biologique » option « Analyses Biologiques et Biochimiques » (ABB), « Génie de l'Environnement » (GE), « Industries Alimentaires et Biologiques » (IAB), « Diététique » ;
- aux étudiants et professeurs des sections préparant une licence de « Sciences de la Vie » ou de « Science et Technologie de l'Ingénieur ».

ISBN : 978-2-7040-1354-8



9 782704 013548

# Sommaire

|                    |    |
|--------------------|----|
| Avant-propos ..... | IX |
|--------------------|----|

## NOTIONS PRÉLIMINAIRES

|                                                                                     |          |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| <b>1 • Notions préliminaires .....</b>                                              | <b>3</b> |
| <i>Rappels mathématiques.....</i>                                                   | <i>3</i> |
| 1. Puissances de 10 .....                                                           | 3        |
| 2. Résolution d'une équation du second degré .....                                  | 3        |
| 3. Logarithmes et exponentielles .....                                              | 3        |
| 4. Régression et modélisation .....                                                 | 3        |
| 5. Primitives .....                                                                 | 3        |
| <i>Quelques grandeurs et constantes utilisées au laboratoire de biochimie .....</i> | <i>4</i> |
| <i>Chimie générale et organique.....</i>                                            | <i>5</i> |
| 1. Tableau périodique et structure électronique .....                               | 5        |
| 2. Principaux composés et principales fonctions chimiques .....                     | 6        |
| 3. Acidobasicité .....                                                              | 7        |
| 4. Réactions d'oxydo-réduction.....                                                 | 9        |
| Exercices Énoncés 1 à 24 .....                                                      | 10       |
| Corrigés 1 à 24 .....                                                               | 15       |

## LES BIOMOLÉCULES ET LEURS TRANSFORMATIONS

|                                                                                            |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>2 • Glucides .....</b>                                                                  | <b>31</b> |
| <i>Oses.....</i>                                                                           | <i>31</i> |
| 1. Définition.....                                                                         | 31        |
| 2. Structure et nomenclature .....                                                         | 31        |
| 3. Propriétés des oses .....                                                               | 33        |
| 4. Dosage d'oses et d'osides simples .....                                                 | 34        |
| 5. Principaux oses et diholosides.....                                                     | 35        |
| <i>Osides.....</i>                                                                         | <i>36</i> |
| 1. Holosides .....                                                                         | 36        |
| 2. Hétérosides.....                                                                        | 37        |
| 3. Glycoconjugués .....                                                                    | 37        |
| <i>Éléments sur le métabolisme des glucides .....</i>                                      | <i>38</i> |
| 1. Métabolisme de quelques glucides (schéma simplifié) .....                               | 38        |
| 2. Glycolyse et cycle de Krebs.....                                                        | 39        |
| 3. Métabolisme des principaux glucides et interrelation avec les autres métabolismes ..... | 40        |
| Exercices Énoncés 1 à 18 .....                                                             | 41        |
| Corrigés 1 à 18.....                                                                       | 49        |
| <b>3 • Lipides .....</b>                                                                   | <b>61</b> |
| 1. Structure et propriétés .....                                                           | 61        |
| 2. Méthodes d'étude.....                                                                   | 63        |
| 3. Autres composés apparentés aux lipides .....                                            | 64        |
| 4. Dégradation et biosynthèse des acides gras .....                                        | 65        |
| Exercices Énoncés 1 à 12 .....                                                             | 66        |
| Corrigés 1 à 12.....                                                                       | 70        |

|                                                                                       |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>4 • Protides</b>                                                                   | 81  |
| <i>Acides aminés</i>                                                                  | 81  |
| 1. Structure des acides aminés                                                        | 81  |
| 2. Propriétés des acides aminés                                                       | 82  |
| 3. Méthodes d'étude des acides aminés                                                 | 84  |
| <i>Peptides et protéines</i>                                                          | 85  |
| 1. Structure des peptides et des protéines                                            | 85  |
| 2. Propriétés des peptides et des protéines                                           | 90  |
| 3. Dosage des peptides et des protéines                                               | 92  |
| 4. Extraction-purification des protéines ; contrôles de pureté des protéines          | 93  |
| <i>Interactions protéine ligand</i>                                                   | 94  |
| 1. Exemples                                                                           | 94  |
| 2. Modélisation de la fixation d'un ligand L sur un site récepteur R                  | 94  |
| 3. Techniques d'étude                                                                 | 94  |
| Exercices   Énoncés 1 à 21                                                            | 95  |
| Corrigés 1 à 21                                                                       | 103 |
| <b>5 • Enzymes</b>                                                                    | 119 |
| 1. Vitesses, activité enzymatique et modes d'expression                               | 119 |
| 2. Extraction-purification – Enrichissement et rendement                              | 120 |
| 3. Facteurs déterminant l'activité enzymatique                                        | 120 |
| 4. Coenzymes                                                                          | 124 |
| 5. Détermination d'activités enzymatiques                                             | 125 |
| 6. Dosage de substrats                                                                | 126 |
| 7. Systèmes à deux substrats et deux produits (Bi-Bi)                                 | 127 |
| 8. Immobilisation des enzymes                                                         | 129 |
| Exercices   Énoncés 1 à 29                                                            | 131 |
| Corrigés 1 à 29                                                                       | 151 |
| <b>6 • Bioénergétique</b>                                                             | 169 |
| 1. Principes de la thermodynamique d'équilibre                                        | 169 |
| 2. Enthalpie libre, enthalpie libre standard et constante d'équilibre d'une réaction  | 170 |
| 3. Principaux composés à haut potentiel d'hydrolyse et notion de couplage énergétique | 172 |
| 4. Formation de composés à haut potentiel d'hydrolyse, exemples                       | 173 |
| Exercices   Énoncés 1 à 8                                                             | 175 |
| Corrigés 1 à 8                                                                        | 178 |
| <b>7 • Initiation à la modélisation des réacteurs biologiques</b>                     | 183 |
| 1. Généralités                                                                        | 183 |
| 2. Écoulements dans les réacteurs continus                                            | 183 |
| 3. Réacteurs enzymatiques                                                             | 184 |
| 4. Les fermenteurs                                                                    | 186 |
| Exercices   Énoncés 1 à 7                                                             | 190 |
| Corrigés 1 à 7                                                                        | 193 |

## BIOLOGIE MOLÉCULAIRE ET BIOINFORMATIQUE

|                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>8 • Biologie moléculaire et génie génétique</b>                | 201 |
| 1. Constituants des nucléosides, nucléotides et acides nucléiques | 201 |
| 2. Nucléosides, nucléotides                                       | 201 |
| 3. Polynucléotides                                                | 202 |
| 4. ADN                                                            | 203 |
| 5. ARN                                                            | 205 |
| 6. Organisation des gènes eucaryotes et procaryotes               | 207 |
| 7. Enzymes utilisées en génie génétique                           | 208 |
| 8. Vecteurs                                                       | 209 |
| 9. ADN recombinant et clonage                                     | 211 |

|                                                                                                 |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 10. Banque génomique et banque d'ADNc .....                                                     | 212 |
| 11. Sondes moléculaires.....                                                                    | 213 |
| 12. Southern-blot.....                                                                          | 214 |
| 13. Séquençage par la méthode de Sanger-Coulson.....                                            | 215 |
| 14. Séquençage automatique.....                                                                 | 216 |
| 15. Amplification en Chaîne par Polymérase (ACP) ou <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)..... | 217 |
| Exercices   Énoncés 1 à 11.....                                                                 | 220 |
| Corrigés 1 à 11.....                                                                            | 225 |
| <b>9 • Bioinformatique</b> .....                                                                | 233 |
| 1. Banques de données biologiques .....                                                         | 233 |
| 2. Outils de la bioinformatique.....                                                            | 234 |
| 3. Principes de base de l'alignement de séquences.....                                          | 235 |
| 4. Alignement global.....                                                                       | 236 |
| 5. Alignement local.....                                                                        | 237 |
| 6. Alignement multiple .....                                                                    | 238 |
| 7. Phytogénétique moléculaire .....                                                             | 239 |
| 8. Recherche de motifs et de domaines.....                                                      | 239 |
| 9. Analyse, visualisation et modélisation de structures.....                                    | 240 |
| Exercices   Énoncés 1 à 19.....                                                                 | 242 |
| Corrigés 1 à 19.....                                                                            | 249 |

## PRINCIPALES MÉTHODES ANALYTIQUES UTILISÉES AU LABORATOIRE DE BIOCHIMIE

|                                                                                                                                              |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>10 • Méthodes chromatographiques</b> .....                                                                                                | 279 |
| <i>Étude théorique de la chromatographie</i> .....                                                                                           | 279 |
| 1. Notion de plateaux théoriques .....                                                                                                       | 279 |
| 2. Étude cinétique .....                                                                                                                     | 283 |
| <i>Schématisation des interactions entre solutés et phase stationnaire dans les principales méthodes chromatographiques classiques</i> ..... | 284 |
| <i>Diverses classifications des chromatographies</i> .....                                                                                   | 285 |
| <i>Tableau des principales méthodes chromatographiques</i> .....                                                                             | 286 |
| <i>Chromatographie liquide haute performance (CLHP) (« High Performance Liquid Chromatography » ou HPLC)</i> .....                           | 288 |
| Exercices   Énoncés 1 à 15.....                                                                                                              | 289 |
| Corrigés 1 à 15.....                                                                                                                         | 303 |
| <b>11 • Méthodes électrophorétiques</b> .....                                                                                                | 311 |
| <i>Principes généraux de l'électrophorèse</i> .....                                                                                          | 311 |
| 1. Définition.....                                                                                                                           | 311 |
| 2. Principe (en veine liquide).....                                                                                                          | 311 |
| 3. Effets de divers paramètres sur la mobilité électrophorétique $u$ .....                                                                   | 311 |
| <i>Électrophorèse en gel d'agarose</i> .....                                                                                                 | 313 |
| 1. Constituants.....                                                                                                                         | 313 |
| 2. Obtention (extemporanée le plus souvent) .....                                                                                            | 313 |
| 3. Appareillage et mise en œuvre .....                                                                                                       | 313 |
| 4. Propriétés .....                                                                                                                          | 313 |
| 5. Applications.....                                                                                                                         | 313 |
| <i>Électrophorèse en gel de polyacrylamide (« Polyacrylamide Gel Electrophoresis » ou PAGE)</i> .....                                        | 314 |
| 1. Constituants.....                                                                                                                         | 314 |
| 2. Obtention.....                                                                                                                            | 314 |
| 3. Appareillage et mise en œuvre .....                                                                                                       | 314 |
| 4. Propriétés (PAGE) .....                                                                                                                   | 314 |
| 5. Applications.....                                                                                                                         | 314 |

|                                                                 |     |
|-----------------------------------------------------------------|-----|
| <i>Focalisation isoélectrique</i> .....                         | 315 |
| 1. Principe.....                                                | 315 |
| 2. Appareillage et mise en œuvre .....                          | 315 |
| 3. Applications.....                                            | 315 |
| <i>Électrophorèse capillaire</i> .....                          | 315 |
| 1. Principe.....                                                | 315 |
| 2. Appareillage et mise en œuvre .....                          | 315 |
| 3. Applications.....                                            | 315 |
| Exercices Énoncés 1 à 10.....                                   | 316 |
| Corrigés 1 à 10.....                                            | 322 |
| <b>12 • Méthodes optiques</b> .....                             | 329 |
| <i>Spectrophotométrie d'absorption moléculaire</i> .....        | 329 |
| 1. Généralités : niveaux énergétiques des molécules .....       | 329 |
| 2. Spectrophotométrie d'absorption moléculaire UV-visible ..... | 330 |
| 3. Spectrométrie infrarouge .....                               | 331 |
| <i>Spectrophotométrie d'émission moléculaire</i> .....          | 332 |
| 1. Principe.....                                                | 332 |
| 2. Appareillage.....                                            | 332 |
| 3. Applications.....                                            | 333 |
| <i>Spectrophotométrie d'émission atomique</i> .....             | 334 |
| 1. Principe.....                                                | 334 |
| 2. Appareillage.....                                            | 334 |
| 3. Applications analytiques .....                               | 335 |
| <i>Spectrophotométrie d'absorption atomique (SPAA)</i> .....    | 336 |
| 1. Principe.....                                                | 336 |
| 2. Appareillage.....                                            | 336 |
| 3. Applications analytiques .....                               | 336 |
| <i>Polarimétrie</i> .....                                       | 337 |
| 1. Principe.....                                                | 337 |
| 2. Appareillage.....                                            | 337 |
| 3. Applications.....                                            | 337 |
| <i>Réfractométrie</i> .....                                     | 338 |
| 1. Principe.....                                                | 338 |
| 2. Appareillage.....                                            | 338 |
| 3. Applications.....                                            | 338 |
| Exercices Énoncés 1 à 15.....                                   | 339 |
| Corrigés 1 à 15.....                                            | 350 |

## QUALITÉ AU LABORATOIRE DE BIOCHIMIE

|                                                       |     |
|-------------------------------------------------------|-----|
| <b>13 • Qualité au laboratoire de biochimie</b> ..... | 363 |
| 1. Mesure et erreur de mesure .....                   | 363 |
| 2. Mesure et incertitude de mesure.....               | 366 |
| 3. Applications au laboratoire .....                  | 368 |